

Method and device for the preparation of beads comprising biocatalysts from bead-forming solutions.

Publication number: EP0367142

Publication date: 1990-05-09

Inventor: MAASSEN JURGEN; WILDENAUER FRANZ; KUCK WERNER

Applicant: KRC UMWELTTECHNIK GMBH (DE)

Classification:

- **international:** **B01J13/04; C12N11/04; B01J13/04; C12N11/00;** (IPC1-7): B01J13/02; C08J5/00; C12N11/00

- **european:** B01J13/04; C12N11/04

Application number: EP19890120005 19891027

Priority number(s): DE19883836894 19881029

Also published as:



EP0367142 (A3)

DE3836894 (A1)

Cited documents:



US4692284

GB218542

US814259

US4279632

CH664298

more >>

Report a data error here

Abstract of **EP0367142**

Method and device for the preparation of beads of equal diameter from bead-forming solutions, in particular highly viscous polymer solutions, with cells or enzymes immobilised in the interior of the beads, in which the solution containing the cells or enzymes is forced through nozzles, the jet emerging from the nozzle is broken up into drops by vibration, and the drops fall into a setting solution. The polymer solution is fed in a metered fashion to each one of a plurality of nozzles fixed to a nozzle support coupled to a vibrator so that uniform beads can be produced industrially.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑪ **DE 3836894 A1**

⑳ Aktenzeichen: P 38 36 894.3
㉑ Anmeldetag: 29. 10. 88
㉒ Offenlegungstag: 3. 5. 90

㉓ Int. Cl. 5:
C12N 11/04
B 01 J 13/04
C 08 J 3/14
C 08 J 3/24

DE 3836894 A1

㉔ Anmelder:
KRC Umwelttechnik GmbH, 8700 Würzburg, DE

㉕ Erfinder:
Maassen, Jürgen, 8707 Veitshochheim, DE;
Wildenauer, Franz; Kück, Werner, 2800 Bremen, DE

㉖ **Verfahren und Vorrichtung zum Herstellen von Perlen aus Perlen bildenden Lösungen**

Verfahren und Vorrichtung zum Herstellen von Perlen gleichen Durchmessers aus Perlen bildenden Lösungen, insbesondere hochviskosen Polymerlösungen, mit im Innern der Perlen immobilisierten Zellen oder Enzymen, bei denen die die Zellen oder Enzyme enthaltende Lösung durch Düsen gedrückt, der aus den Düsen austratende Strahl mittels Vibration in Tropfen zerlegt wird und die Tropfen in eine Härtungslösung fallen. Die Polymerlösung wird jeder einzelnen von mehreren, an einem mit einem Vibrator gekoppelten Düsenträger befestigten Düsen dosiert zugeführt, so daß sich gleichmäßige Perlen industriell erzeugen lassen.

DE 3836894 A1

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Herstellen von Perlen gleichen Durchmessers aus Perlen bildenden Lösungen, insbesondere aus hochviskosen Polymerlösungen, mit im Innern der Perlen immobilisierten Zellen oder Enzymen, bei dem eine die Zellen oder Enzyme enthaltende Lösung durch Düsen gedrückt, der aus den Düsen austretende Strahl mittels Vibration in Tropfen zerlegt wird und die Tropfen in eine Härtungslösung fallen.

Derartige Verfahren und Vorrichtungen dienen zum Herstellen von Biokatalysatoren. Zu diesem Zweck werden Zellen oder Enzyme einem wasserlöslichen, hochviskosen Polymer, wie z.B. Alginat oder Chitosan zugemischt. Durch Eintropfen in eine Vernetzungslösung werden die Zellen oder Enzyme im Inneren einer Perle immobilisiert. Die so gewonnenen Biokatalysatoren lassen sich in zahlreichen biotechnischen Prozessen einsetzen. Es wird dabei angestrebt, Perlen von möglichst gleichem Durchmesser zu verwenden.

Im Labormaßstab wird die hochviskose Lösung durch Kapillaren getropft und der Tropfen durch einen Luftstrom abgeblasen. Es liegt auf der Hand, daß mit diesem Verfahren nur geringe Mengen Perlen erzeugt werden können, die für eine technische Anwendung zu gering ist. Hinzu kommt, daß der Luftdurchsatz hoch und der erzielbare Durchmesser auf 1 bis 1,2 mm beschränkt ist.

In der japanischen Patentschrift 2 40 168 ist ein Verfahren beschrieben, bei dem die Tropfen durch Abschleudern der Lösung von einem Drehteller erzeugt werden. Hierbei ist der Perlendurchmesser jedoch sehr ungleichmäßig.

Schließlich ist es auch bekannt, die Polymerlösung selbst durch einen vibrierenden Stößel oder eine vibrierende Membran zum Schwingen zu bringen, so daß die durch eine Kapillare gedrückte Lösung beim Austritt in Tropfen zerlegt wird. Dieses Verfahren ist in *AIChE Journal* 1975, 21 (2), Seiten 383 bis 385 beschrieben.

Mit diesem Verfahren läßt sich der Tropfendurchmesser bei guter Reproduzierbarkeit vergrößern, jedoch müssen, will man hohe Durchsätze erzielen, mehrere Düsen beaufschlagt werden. Dies müßte äußerst gleichmäßig geschehen, was jedoch wegen Reflexionen und Resonanzen der Schwingungen in der Flüssigkeit zu Ungleichmäßigkeiten bei der Tropfenform und dem Durchmesser führt, so daß sich jeweils nur eine sehr kleine Anzahl von Kapillaren mit einem vibrierenden Stößel oder einer vibrierenden Membran beaufschlagen lassen.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zu schaffen, mit dem sich eine große Anzahl nach Form und Größe gleichmäßiger Perlen industriell herstellen lassen.

Gelöst wird diese Aufgabe bei einem Verfahren der eingangs erwähnten Art dadurch, daß erfindungsgemäß die Lösung, beispielsweise eine Polymerlösung, jeder einzelnen von mehreren, an einem mit einem Vibrator gekoppelten Düsenträger angeordneten Düsen dosiert zugeführt wird. Jede Düse besitzt eine eigene Zuleitung, in der ein Dosierventil angeordnet ist. Die Tropfengröße und Tropfenform läßt sich daher unabhängig von überlagerten Resonanzen und Reflexionen einstellen, so daß eine große Zahl von Düsen an einem Düsenträger angeordnet sein können und der Einsatz eines Vibrators zur Perlenerzeugung im technischen Maßstab möglich ist.

Der Durchsatz, die Tropfengröße und die Tropfen-

form lassen sich durch Verändern der Vibratorfrequenz, der Vibratoramplitude, des Drucks der Lösung und des Durchflusses durch die Dosierventile einstellen, so daß eine große Anzahl von Variablen gegeben ist, mit Hilfe derer sich die gewünschten Werte erreichen lassen.

Eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens ist gekennzeichnet durch einen Druckvorlagebehälter, von dem die Lösung zu einem nachgeschalteten Verteilerblock gelangt. Mit diesem Verteilerblock sind Feindosierventile verbunden, von denen Leitungen zu mehreren, an einem Düsenträger angeordneten Düsen führen, die mittels eines starr mit dem Düsenträger gekoppelten Vibrators in Schwingungen versetzt werden. Besonders geeignet sind kegelförmige Düsen mit scharfer geschliffener Kante und einem Durchmesser von 0,1 bis 1,5 mm.

Die Vorrichtung zum Herstellen der Perlen kann aus einem Ansatzbehälter für mit Zellen oder Enzymen gemischter Lösung, einer Filtrationsstrecke, einem Druckvorlagebehälter, einem Verteilerblock, Feindosierventilen, einem Düsenträger, mehreren Düsen, einem Vibrator, einer unterhalb der Düsen angeordneten, mit Härtungslösung gefüllten Auffangrinne für die Perlen und wenigstens einem mit Härtungslösung gefüllten Härtungsbehälter bestehen. Auf diese Weise läßt sich im Durchlauf und im industriellen Maßstab eine große Anzahl von Perlen mit definiertem Durchmesser, ausgehend von den einzelnen Bestandteilen wie Alginat bzw. Chitosan sowie den Zellen bzw. Enzymen herstellen.

Der Ansatzbehälter weist vorzugsweise ein Rührwerk, einen Dispergator und eine Heizvorrichtung auf. Die Heizvorrichtung kann aus einem in die Lösung eintauchenden Heizelement oder aus einem den Ansatzbehälter umgebenden Heizmantel bestehen. Ein solcher Heizmantel weist den Vorzug auf, daß er sich wahlweise mit einer Heiz- oder einer Kühlflüssigkeit beaufschlagen läßt, so daß sich die Lösung im Ansatzbehälter sowohl erhitzen als auch kühlen läßt. Die Lösung läßt sich auch dadurch erhitzen oder abkühlen, daß sie mittels einer Umwälzpumpe durch eine mit dem Ansatzbehälter verbundene Umwälzleitung mit einem Wärmetauscher umgepumpt wird.

Um Schleimklümpchen abzuschneiden, bevor die Lösung vom Ansatzbehälter in den Druckvorlagebehälter gelangt, ist zwischen beiden eine Filtrationsstrecke angeordnet, die aus einem Grobfilter mit einem Lochdurchmesser von 2 mm und einem Feinfilter mit einem Lochdurchmesser von 0,2 mm bestehen kann.

Als vorteilhaft hat sich erwiesen, wenn der Druckvorlagebehälter etwa das 1,5-fache Volumen des Ansatzbehälters besitzt, mit Preßluft oder Stickstoff geregelten Drucks beaufschlagt wird und über ein Steigrohr mit dem Verteilerblock verbunden ist. Wird der Preßluft- bzw. Stickstoffdruck genügend genau eingeregelt, gelangt die Lösung völlig gleichmäßig über den Verteilerblock zu den Düsen.

Vorzugsweise sind die Auffangrinne und der bzw. die Härtungsbehälter über eine Umwälzleitung mit einer Umwälzpumpe miteinander verbunden, so daß ein kontinuierliches Arbeiten unabhängig vom Befüllen und Entleeren der Härtungsbäder möglich ist.

Die Erfindung wird im folgenden anhand eines in der Zeichnung dargestellten Ausführungsbeispiels des näheren erläutert.

In einem Ansatzbehälter 1 zum Herstellen einer hochviskosen Alginat-Mikroorganismenlösung befinden sich ein Rührwerk 2, ein Dispergator 3 und ein Heizelement 4. In diesem Ansatzbehälter 1 wird Algi-

natpulver in Wasser dispergiert, gelöst und zum Abtöten von Keimen und zum Einstellen der Viskosität erhitzt. Das Erhitzen dauert vorzugsweise 15 Minuten bei 120°C oder 45 Minuten bei 90°C; es kann auch durch Beaufschlagen eines Heizmantels 7 mit einer Heizflüssigkeit, z.B. Dampf erfolgen. Wird dem Heizmantel 7 eine Kühlflüssigkeit zugeführt, kühlt die Alginatlösung im Ansatzbehälter 1 wieder ab.

Besonders schnell läßt sich das Abkühlen erreichen, wenn die Lösung durch Umpumpen mittels einer Verdrängerpumpe 5 durch einen Wärmetauscher 6 geleitet wird. Wenn die Lösung auf 30 bis 40°C abgekühlt ist, wird in die Lösung eine Bakterienfeuchtmasse unter Einsatz des Rührwerks 2 eingemischt.

Die die Zellen oder Enzyme enthaltende Lösung wird durch eine Filtrationsstrecke geleitet, um Schleimklümpchen abzuschneiden, bevor die Lösung in einen Druckvorlagebehälter 10 gelangt. Zu diesem Zweck wird die Alginat-Mikroorganismenlösung zunächst durch einen Grobfilter 8 mit einem Lochdurchmesser von 2 mm und anschließend durch einen Feinfilter 9 mit einem Lochdurchmesser von 0,2 mm gedrückt.

Der Druckvorlagebehälter 10 weist vorzugsweise das anderthalbfache Volumen des Alginatansatzbehälters 1 auf und wird mit Preßluft oder Stickstoff konstanten Drucks in nicht dargestellter Weise beaufschlagt.

Die Lösung verläßt den Druckvorlagebehälter 10 über eine Steigleitung und gelangt zu einem Verteilerblock 11. Dem Verteilerblock 11 sind für jede Düse 15 je ein Dosierventil 12 nachgeordnet, so daß jeder Düse 15 die gleiche Menge Polymerlösung zugeführt wird. Die Düsen 15 sind fest mit einem Düsenträger 14 verbunden und werden durch einen Vibrator 13 über den Düsenträger 14 in Schwingungen versetzt. Die Frequenz und die Amplitude der Schwingung lassen sich einstellen. Als besonders günstig hat sich eine Frequenz von 300 bis 600 Schwingungen je Sekunde erwiesen. Mit dem Düsenträger 14 lassen sich 10 bis 20 Düsen 15 koppeln, so daß sich ein hoher Durchsatz ergibt. Als besonders wirksam haben sich kegelförmige Düsen 15 mit einem Durchmesser von 0,1 bis 1,5 mm mit scharf geschliffener Kante erwiesen.

Infolge der Vibrationen wird jeder aus einer Düse 15 austretende Strahl in einzelne Tropfen zerlegt, die sich in kurzer Entfernung zur Strahlaustrittsstelle zu Perlen mit definiertem Durchmesser zusammenziehen. Die Größe und die Form, sowie die Anzahl der Perlen je Zeiteinheit läßt sich über die Frequenz und die Amplitude des Vibrators 13, den Gasdruck im Druckvorlagebehälter 10 und die Dosierventile 12 so fein einstellen, daß eine Anpassung an vorgegebene Werte in weiten Grenzen möglich ist.

Die Kugeln fallen in eine mit Härtungslösung gefüllte Auffangrinne 16 und werden von dort in Härtungsbehälter 18 gespült. Zu diesem Zweck ist eine Umwälzpumpe 17 so angeordnet, daß Härtungslösung aus dem Härtungsbehälter 18 in die Auffangrinne 16 gepumpt wird und von dort wieder in die Härtungsbehälter 18 zurückfließt. Die Fließgeschwindigkeit in der Auffangrinne 16 ist so gewählt, daß die Perlen in der Rinne weder sich absetzen noch verkleben. Die Tiefe der Auffangrinne 16 ist so bemessen, daß die Perlen nicht auf den Rinnenboden treffen.

Die in die Härtungsbehälter 18 eingespülten Perlen werden dort durch ein nicht dargestelltes Sieb zurückgehalten und mittels eines Rührwerks 19 in der Schwebe gehalten, bis sie ausgehärtet sind.

Über nicht dargestellte Ventile läßt sich jeweils ein

Härtungsbehälter 18 zuschalten, während ein anderer Härtungsbehälter 18 entleert wird.

Patentansprüche

1. Verfahren zum Herstellen von Perlen gleichen Durchmessers aus Perlen bildenden Lösungen, mit im Innern der Perlen immobilisierten Zellen oder Enzymen, bei dem eine die Zellen oder Enzyme enthaltende Lösung durch Düsen gedrückt, der aus den Düsen austretende Strahl mittels Vibrationen in Tropfen zerlegt wird und die Tropfen in eine Härtungslösung fallen, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Perlen bildende Lösung jeder einzelnen von mehreren an einem mit einem Vibrator gekoppelten Düsenträger angeordneten Düsen dosiert zugeführt wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchmesser der Perlen durch Verändern der Vibratorfrequenz eingestellt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchmesser der Perlen durch Verändern der Vibratoramplitude eingestellt wird.

4. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchmesser der Perlen durch Verändern des Drucks der Lösung eingestellt wird.

5. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Durchmesser der Perlen durch Verändern des Durchflusses durch Dosierventile eingestellt wird.

6. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 5, gekennzeichnet durch einen Druckvorlagebehälter (10) für die Perlen bildende Lösung, einen nachgeschalteten Verteilerblock (11), Feindosierventile (12), einen Düsenträger (14) mit mehreren Düsen (15) und einen starr mit dem Düsenträger (15) gekoppelten Vibrator (13).

7. Vorrichtung nach Anspruch 6, gekennzeichnet durch kegelförmige Düsen (15) mit scharfer geschliffener Kante und einem Durchmesser von 0,1 bis 1,5 mm.

8. Vorrichtung nach Anspruch 6 oder 7, dadurch gekennzeichnet, daß zehn bis zwanzig Düsen (15) an einem Düsenträger (14) angeordnet sind.

9. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 6 bis 8, gekennzeichnet durch einen Ansatzbehälter (1), eine Filtrationsstrecke (8, 9), einen Druckvorlagebehälter (10), einen Verteilerblock (11), Feindosierventile (12), einen Düsenträger (14), mehrere Düsen (15), einen Vibrator (13), eine unterhalb der Düsen (15) angeordnete Auffangrinne (16) und wenigstens einen Härtungsbehälter (18).

10. Vorrichtung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Ansatzbehälter (1) ein Rührwerk (2), einen Dispergator (3) und eine Heizvorrichtung (4 bzw. 7) aufweist.

11. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Heizvorrichtung aus einem Heizelement (4) besteht.

12. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Heizvorrichtung aus einem Heizmantel (7) besteht.

13. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 10 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß in einer mit dem Ansatzbehälter (1) verbundenen

Umwälzleitung eine Umwälzpumpe (5) und ein Wärmetauscher (6) angeordnet sind.

14. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 9 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Filtrationsstrecke aus einem Grobfilter (8) mit einem Lochdurchmesser von 2 mm und einem Feinfilter (9) mit einem Lochdurchmesser von 0,2 mm besteht.

15. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 9 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß der Druckvorlagebehälter (10) etwa das 1,5-fache Volumen des Ansatzbehälters (1) besitzt, an eine Preßluft- oder eine Stickstoffquelle angeschlossen und über ein Steigrohr mit dem Verteilerblock (11) verbunden ist.

16. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 9 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Auffangrinne (16) und der Härtingsbehälter (18) über eine Umwälzleitung mit einer Umwälzpumpe (17) in Verbindung stehen.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

25

30

35

40

45

50

55

60

65

—Leerseite—

